

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Progesterone Receptor
Clone PgR 636
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

English

Code IS068

Intended use	For in vitro diagnostic use. FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor, Clone PgR 636, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with EnVision™ FLEX+, High pH visualization kit together with Autostainer/Autostainer Plus instruments to semi-quantitatively detect human progesterone receptor in formalin-fixed, paraffin-embedded human breast carcinoma. This antibody labels progesterone receptor-positive cells and is useful in the assessment of progesterone receptor status in human breast carcinomas. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.
Synonym for antigen	PR
Summary and explanation	The role of steroid hormone receptors in breast cancer is well-known (1,2). The absence of estrogen receptor ER and progesterone receptor PR predicts early recurrence and poor survival of breast cancer patients (3-6). Also, the presence of ER and PR in tumors predicts the potential for benefit from tamoxifen and other endocrine-related therapies. Measurement of ER and PR can be determined semi-quantitatively using IHC or quantitatively using DCC or EIA. Correlation between the semi-quantitative and quantitative evaluations of PR have ranged from 73 to 91% depending on the laboratory and antibody used (7-9). Refer to Dako's <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.
Reagent provided	Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L NaN₃. <u>Clone</u>: PgR 636 (10) <u>Isotype</u>: IgG1, kappa
Immunogen	Formalin-fixed recombinant full-length A-form of human progesterone receptor (10)
Specificity	Anti-PR, PgR 636 has been demonstrated to react with the PR-A and PR-B forms by Western blot of whole cell extracts and reacts with both free and hormone-bound PR (10). The epitope has been mapped to the amino terminal domain shared by PR-A and PR-B.
Precautions	- For professional users. - This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing. - As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. - Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. - Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage	Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.
Specimen preparation including materials required but not supplied	<u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm. <u>Pre-treatment:</u> Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is required. Optimal results are obtained by pretreating tissues with HIER using diluted EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Codes K8012/K8004). Deparaffinization, rehydration and epitope retrieval can be performed in Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to PT Link User Guide. The following parameters should be used for PT Link: Pre-heat temperature: 65 °C; epitope retrieval temperature and time: 97 °C for 20 (±1) minutes; cool down to 65 °C. Remove slide rack from PT tank and immediately dip slides in jar/tank (e.g., PT Link Rinse Station (Code PT109)) containing diluted room temperature EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) (Code K8007). Leave slides in Wash Buffer for 1-5 minutes. The tissue sections should not dry out during the pre-treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended. After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.
Staining procedure including materials required but not supplied	The recommended visualization system is EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH (Code K8012). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols: Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume) Autoprogram: PR (without counterstaining) or Autoprogram: PRH (with counterstaining) The Auxiliary step should be set to "rinse buffer" in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to "none." This ascertains comparable wash times. All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator's Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the used Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Services. Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended. Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include columnar epithelial cells, the basal squamous epithelial cells and the stromal cells and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics" in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).
Staining interpretation	The cellular staining pattern is nuclear. Cytoplasmic labeling, if observed, should be regarded as non-specific. A positive result is defined as nuclear staining in ≥1% of tumor cells at any stain intensity. This is consistent with ASCO/CAP's recommended cut-off of ≥1% positive tumor cells for positive assessment (11).
Product specific limitation	1. False-negative results could be caused by degradation of the antigen in the tissues over time. Specimens should be stained within 2 months of mounting of tissues on slides when stored at room temperature (12). 2. Lymphocytes and stromal cells can exhibit positive staining with the FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human PR clone PgR 636 antibody and should not be interpreted or counted as PR staining tumor cells. 3. For optimal and reproducible results, the PR protein requires target retrieval when tissues are routinely fixed (neutral buffered formalin) and paraffin embedded. 4. Use of Dako Anti-PR, Clone PgR 636 on tissues with fixatives other than formalin has not been validated.
Performance characteristics	<u>Precision:</u> Serial sections from each of 12 different formalin-fixed paraffin-embedded blocks of breast carcinoma, representing a dynamic range of PR expression, were collected for testing. Testing was performed as follows: <u>Intra-run precision:</u> Following the standard EnVision™ FLEX+, High pH protocol, three sections from each tissue block were stained with Anti-PR, Clone PgR 636. Concurrently one section from each block was stained with a negative control reagent. <u>Inter-run precision:</u> Staining one section from each tissue block, the above procedure was repeated on five non-consecutive days. Concurrently, one section from each tissue block was stained with a negative control reagent. <u>Inter-instrument precision:</u> Staining a total of three sections from each tissue block, the above procedure was performed on three different Autostainer instruments by three different operators. Concurrently, one slide from each tissue block was stained with a negative control reagent. Precision experiments with Anti-PR, Clone PgR 636 yielded consistent results with intra-run, inter-run and inter-instrument testing. Consistent test conditions were maintained throughout the study and reagents were stored at 2-8 °C between test runs.

Normal tissues: Table 1 contains a summary of Anti-PR, Clone PgR 636 immunoreactivity on the recommended panel of normal tissues. All tissues were formalin-fixed and paraffin-embedded and stained with Anti-PR, Clone PgR 636 according to the instructions in the package insert. Cytoplasmic staining was observed with Anti-PR, Clone PgR 636 in several different tissue elements including epithelium, stroma, interstitial cells and inflammatory cells. While cytoplasmic staining was observed it is not considered diagnostic as per the intended use of this antibody.

Table 1: Summary of Anti-PR, Clone PgR 636 Normal Tissue Reactivity

Tissue Type (# tested)	Positive Tissue Elements	Tissue Type (# tested)	Positive Tissue Elements
Adrenal (3)	1/3 cells in glomerulosa region (50%), nuclear	Nerve, peripheral (3)	0/3
	1/3 cells in glomerulosa region (50%), nuclear	Ovary (3)	3/3 Stromal cells (50-70%), nuclear
Bone marrow (3)	0/3	Pancreas (3)	2/3 Islets of Langerhans (50-90%), nuclear
Breast (3)	2/3 Glandular epithelial cells (50-90%), nuclear	Parathyroid (3)	3/3 Glandular epithelial cells (1-10%), nuclear
Cerebellum (3)	0/3	Pituitary (3)	3/3 Pituitary glandular cells (1-40%), nuclear
Cerebrum (3)	1/3 Meningial cells (100%), nuclear	Prostate (3)	3/3 Stromal cells (30-80%), nuclear
Cervix (3)	3/3 Epithelial cells (50-90%), nuclear	Salivary gland (3)	3/3 Glandular epithelial cells (<1%-60%), nuclear
	3/3 Stroma, including inflammatory cells (50%), nuclear	Skin (3)	0/3
Colon (3)	1/3 Lymphoid/inflammatory cells (10%), nuclear	Small intestine (3)	3/3 Stromal and inflammatory cells (30-50%), nuclear
	1/3 Lymphoid/inflammatory cells (10%), nuclear	Spleen (3)	0/3
Esophagus (3)	1/3 Stromal cells (50%), nuclear	Stomach (3)	1/3 Interstitial cells (20%), nuclear
Kidney (3)	3/3 Interstitial cells (1-5%), nuclear	Testis (3)	3/3 Interstitial cells (5-80%), nuclear
Liver (3)	0/3	Thymus (3)	0/3
Lung (3)	2/3 Interstitial cells (1-10%), nuclear	Thyroid (3)	0/3
	2/3 Inflammatory cells (1-10%), nuclear	Tonsil (3)	0/3
Mesothelial cells (2)	0/2	Uterus (2)	2/2 Glandular epithelial cells (100%), nuclear
Muscle, cardiac (3)	3/3 Myocytes (30%), peri-nuclear		2/2 Myometrial stromal cells (100%), nuclear
Muscle, skeletal (3)	0/3		

Method comparison: Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636 testing was performed with EnVision™ FLEX+ and scored according to ASCO/CAP guidelines ($\geq 1\%$ cut-off) (11). Anti-PR (Clone 1294) testing was performed using Dako ER/PR pharmDx™ Kit and scored using the Allred scoring guideline described in the package insert. The method comparison data are presented in Table 2. Using these respective scoring guidelines, Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636 was concordant with the PR antibody component of Dako ER/PR pharmDx™ Kit, exhibiting values for overall, positive and negative agreement of 94.5%, 95.8% and 93.1%, respectively. Table 3 shows the comparison of both assays when scored using the ASCO/CAP guidelines.

Table 2: Agreement between Anti-PR, Clone PgR 636 (ASCO/CAP) and Anti-PR Component of ER/PR pharmDx™ Kit (Allred)

		Anti-PR Component of ER/PR pharmDx™ Kit		Total
		Positive	Negative	
Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636	Positive	115	8	123
	Negative	5	108	113
	Total	120	116	236

Positive Percent Agreement = 95.8% (95% CI: 91.1-96.8)

Negative Percent Agreement = 93.1% (95% CI: 90.5-96.7)

Overall Percent Agreement = 94.5% (95% CI: 90.8-96.8)

Table 3: Agreement between Anti-PR, Clone PgR 636 (ASCO/CAP) and Anti-PR Component of ER/PR pharmDx™ Kit (ASCO/CAP)

		Anti-PR Component of ER/PR pharmDx™ Kit		Total
		Positive	Negative	
Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636	Positive	115	8	123
	Negative	1	112	113
	Total	116	120	236

Positive Percent Agreement = 99.1% (95% CI: 93.0-98.0)

Negative Percent Agreement = 93.3% (95% CI: 92.8-98.0)

Overall Percent Agreement = 96.2% (95% CI: 93.0-98.0)

Inter Laboratory Reproducibility: Anti-PR, Clone PgR 636 reproducibility testing was performed in three testing laboratories over five non-consecutive days on 21 unique breast cancer specimens and scored according to ASCO/CAP guidelines ($\geq 1\%$ cut-off) for a total of 315 evaluations. Tables 4, 5, and 6 detail the site to site reproducibility of the assay. The average positive, average negative, and overall percent agreement calculations support the highly reproducible results of the PR (PgR 636) assay when used for the determination of PR status in a clinical setting.

Table 4: Site 1 vs. Site 2 Inter Laboratory Reproducibility of Anti-PR, Clone PgR 636

		Site 1		Total
Site 2		Positive	Negative	
	Positive	55	0	55
	Negative	4	46	50
	Total	59	46	105

Average Positive Percent Agreement = 96.5%

Average Negative Percent Agreement = 95.8%

Table 5: Site 1 vs. Site 3 Inter Laboratory Reproducibility of Anti-PR, Clone PgR 636

		Site 1		Total
Site 3		Positive	Negative	
	Positive	59	1	60
	Negative	0	45	45
	Total	59	46	105

Average Positive Percent Agreement = 99.2%

Average Negative Percent Agreement = 98.9%

Table 6: Site 2 vs. Site 3 Inter Laboratory Reproducibility of Anti-PR, Clone PgR 636

		Site 2		Total
Site 3		Positive	Negative	
	Positive	55	5	60
	Negative	0	45	45
	Total	55	50	105

Average Positive Percent Agreement = 95.7%

Average Negative Percent Agreement = 94.7%

Français

Réf. IS068

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor, Clone PgR 636, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), est destiné à une utilisation en immunohistochimie avec le kit de visualisation EnVision™ FLEX+, High pH, sur l'appareil Autostainer/Autostainer Plus, pour la détection semi-quantitative des récepteurs de la progestérone humaine dans le carcinome du sein humain fixé au formol et inclus en paraffine. Cet anticorps marque les cellules à récepteurs de progestérone positifs et aide à évaluer l'état des récepteurs de la progestérone dans les carcinomes du sein humains.

L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Synonyme de l'antigène

PR

Résumé et explication

Le rôle des récepteurs d'hormones stéroïdiennes dans le cancer du sein est bien connu (1,2). L'absence de récepteurs d'œstrogènes (ER) et de progestérone (PR) prédit une récurrence précoce et un faible taux de survie chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (3-6). De même, la présence d'ER et de PR dans les tumeurs indique l'éventuel bénéfice d'un traitement au tamoxifène ou d'autres thérapies endocriniennes. La mesure des ER et des PR peut être déterminée semi-quantitativement en utilisant une méthode IHC ou quantitativement à l'aide d'une méthode charbon dextran ("dextran-coated charcoal - DCC") ou immunoenzymatique (EIA). La corrélation entre les évaluations semi-quantitatives et quantitatives des PR se situe entre 73 et 91% en fonction du laboratoire et de l'anticorps utilisé (7-9).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du kit de détection pour les procédures IHC : 1) Principe de la procédure, 2) Matériel requis mais non fourni, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle de qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L de NaN₃.

Clone : PgR 636 (10) Isotype : IgG1, kappa

Immunogène

Forme A pleine longueur recombinante fixée au formol du récepteur humain de la progestérone (10).

Spécificité

Il a également été prouvé par Western blot d'extraits cellulaires totaux que l'anticorps Anti-PR, PgR 636 réagit aux formes PR-A et PR-B et qu'il réagit à la fois au PR libre et au PR lié à l'hormone (10). L'épitope a été cartographié dans le domaine amino-terminal partagé par PR-A et PR-B.

Précautions d'emploi

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique sous sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
4. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons tissulaires doit être d'environ 4 µm.

Prétraitement : Le prétraitement des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus par la méthode HIER, à l'aide de la solution diluée EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (réf. K8012/K8004). Le déparaffinage, la réhydratation et la restauration de l'épitope peuvent être réalisés dans l'appareil PT Link de Dako (réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se reporter au Guide d'utilisation du PT Link. Les paramètres suivants doivent être utilisés pour le PT Link : Température de préchauffage : 65 °C ; température et durée de restauration de l'épitope : 97 °C pendant 20 minutes (±1 minute) ; laisser refroidir jusqu'à 65 °C. Retirer le portoir à lames de la cuve et plonger immédiatement les lames dans une jarre/cuve (par ex. PT Link Rinse Station, réf. PT109) contenant du tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x, réf. K8007) dilué et à température ambiante. Laisser les lames dans le tampon de lavage pendant 1 à 5 minutes.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du prétraitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissu sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser les lames FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020). Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni

Le système de visualisation recommandé est le EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH (réf. K8012). Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel des instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants :

Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume d'application de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume d'application de 300 µL)

Programme automatique : PR (sans contre-coloration) ou PRH (avec contre-coloration)

L'étape Auxiliary doit être réglée sur "rinse buffer" lors des cycles de coloration avec ≤ 10 lames. Pour les cycles de coloration de plus de 10 lames, l'étape dite "Auxiliary" doit être réglée sur "none". Cela garantit des temps de lavage comparables.

Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se référer au Manuel de l'opérateur spécifique à l'instrument. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'instrument Dako Autostainer utilisé, contacter le service technique de Dako.

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide d'hématoxyline EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps et avec le même protocole que les échantillons de patients. Le tissu de contrôle positif doit comprendre les cellules épithéliales en colonnes, les cellules épithéliales squameuses basales et les cellules stromales. De plus, les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction semblables à ceux décrits pour ce tissu à la section "Performances" pour tous les échantillons positifs. Le réactif de contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. IS750).

Interprétation de la coloration

Le profil de coloration cellulaire est nucléaire. Le marquage cytoplasmique, s'il est observé, doit être considéré comme non spécifique. Un résultat positif est défini comme une coloration dans ≥ 1% des cellules tumorales quelle que soit l'intensité de la coloration. Cette définition suit les recommandations de l'ASCO/CAP (Société américaine d'oncologie clinique/Collège des pathologistes américains) avec un seuil ≥ 1% de cellules tumorales positives pour une évaluation positive (11).

Limites spécifiques au produit

1. Les faux négatifs peuvent être dus à une dégradation de l'antigène dans les tissus au fil du temps. Les échantillons doivent être colorés dans les 2 mois suivant le montage des tissus sur les lames lorsqu'ils sont conservés à température ambiante (12).
2. Les lymphocytes et les cellules stromales peuvent présenter une coloration positive avec l'anticorps FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human PR clone PgR 636 et ne doivent pas être interprétés ou comptés comme des cellules tumorales à PR coloré.
3. Pour des résultats optimaux et reproductibles, la protéine PR requiert une restauration des cibles lorsque les tissus sont fixés en routine (formol neutre tamponné) et inclus en paraffine.
4. L'utilisation de l'anticorps Dako Anti-PR, Clone PgR 636 sur des tissus fixés par d'autres produits que le formol n'a pas été validée.

Performances

Précision : Des coupes en série provenant de chacun des 12 blocs différents de carcinome du sein fixés au formol et inclus en paraffine, représentant une plage variée d'expression du PR, ont été recueillies pour l'analyse. L'analyse a été réalisée comme suit :

Précision intra-cycle : En suivant le protocole standard de EnVision™ FLEX+, High pH, trois coupes provenant de chaque bloc de tissu ont été colorées avec l'anticorps Anti-PR, Clone PgR 636. Simultanément, une coupe provenant de chaque bloc a été colorée à l'aide d'un réactif de contrôle négatif.

Précision inter-cycle : En colorant une coupe provenant de chaque bloc de tissu, la procédure a été répétée sur cinq jours non consécutifs. Simultanément, une coupe provenant de chaque bloc de tissu a été colorée à l'aide d'un réactif de contrôle négatif.

Précision inter-instrument : En colorant trois coupes provenant de chaque bloc de tissu, la procédure ci-dessus a été réalisée sur trois instruments Autostainer différents par trois opérateurs différents. Simultanément, une lame provenant de chaque bloc de tissu a été colorée à l'aide d'un réactif de contrôle négatif.

Les expériences de précision réalisées avec l'anticorps Anti-PR, Clone PgR 636 ont produit des résultats cohérents au cours des analyses intra-cycle et inter-cycle et inter-instrument. Les mêmes conditions d'analyse ont été conservées tout au long de l'étude et les réactifs ont été stockés entre 2 et 8 °C entre les cycles de test.

Tissus sains : Le Tableau 1 présente un résumé de l'immunoréactivité à l'anticorps Anti-PR, Clone PgR 636 sur le panel recommandé de tissus sains. Tous les tissus ont été fixés au formol et inclus en paraffine puis colorés à l'anti-PR, Clone PgR 636 conformément aux instructions de la notice. Une coloration cytoplasmique a été observée avec l'anticorps Anti-PR, Clone PgR 636 dans différents éléments tissulaires, notamment dans l'épithélium, le stroma, les cellules interstitielles et les cellules inflammatoires. Bien qu'une coloration cytoplasmique ait été observée, elle n'est pas prise en compte pour le diagnostic, conformément à l'utilisation prévue de cet anticorps.

Tableau 1 : Résumé de la réactivité à l'anticorps Anti-PR, Clone PgR 636 dans les tissus sains

Type de tissu (nb. testés)	Éléments tissulaires positifs	Type de tissu (nb. testés)	Éléments tissulaires positifs
Surrénale (3)	1/3 cellules dans la zone glomérulée (50%), coloration nucléaire	Nerf périphérique (3)	0/3
	1/3 cellules dans la zone glomérulée (50%), coloration nucléaire	Ovaire (3)	3/3 cellules stromales (50-70%), coloration nucléaire
Moelle osseuse (3)	0/3	Pancréas (3)	2/3 îlots de Langerhans (50-90%), coloration nucléaire
Sein (3)	2/3 cellules épithéliales glandulaires (50-90%), coloration nucléaire	Parathyroïde (3)	3/3 cellules épithéliales glandulaires (1-10%), coloration nucléaire
Cervelet (3)	0/3	Hypophyse (3)	3/3 cellules hypophysaires glandulaires (1-40%), coloration nucléaire
Cerveau (3)	1/3 cellules méningées (100%), coloration nucléaire	Prostate (3)	3/3 cellules stromales (30-80%), coloration nucléaire
Col de l'utérus (3)	3/3 cellules épithéliales (50-90%), coloration nucléaire	Glande salivaire (3)	3/3 cellules épithéliales glandulaires (<1%-60%), coloration nucléaire
	3/3 cellules stromales, comprenant des cellules inflammatoires (50%), coloration nucléaire	Peau (3)	0/3
Côlon (3)	1/3 cellules lymphoïdes/inflammatoires (10%), coloration nucléaire	Intestin grêle (3)	3/3 cellules stromales et inflammatoires (30-50%), coloration nucléaire
	1/3 cellules lymphoïdes/inflammatoires (10%), coloration nucléaire	Rate (3)	0/3
Œsophage (3)	1/3 cellules stromales (50%), coloration nucléaire	Estomac (3)	1/3 cellules interstitielles (20%), coloration nucléaire
Rein (3)	3/3 cellules interstitielles (1-5%), coloration nucléaire	Testicule (3)	3/3 cellules interstitielles (5-80%), coloration nucléaire
Foie (3)	0/3	Thymus (3)	0/3
Poumon (3)	2/3 cellules interstitielles (1-10%), coloration nucléaire	Thyroïde (3)	0/3
	2/3 cellules inflammatoires (1-10%), coloration nucléaire	Amygdale (3)	0/3
Cellules mésothéliales (2)	0/2	Utérus (2)	2/2 cellules épithéliales glandulaires (100%), coloration nucléaire
Muscle, cardiaque (3)	3/3 myocytes (30%), coloration périnucléaire		2/2 cellules stromales du myomètre (100%), coloration nucléaire
Muscle, squelettique (3)	0/3		

Comparaison des méthodes : Les analyses avec l'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636 ont été effectuées avec EnVision™ FLEX+ et évaluées selon les recommandations ASCO/CAP (seuil ≥ 1%) (11). Les analyses avec l'anticorps Anti-PR (Clone 1294) ont été effectuées avec le kit Dako ER/PR pharmDx™ et évaluées selon les recommandations d'évaluation Allred décrites dans la notice. Les données de comparaison des méthodes sont présentées dans le Tableau 2. En utilisant ces recommandations d'évaluation respectives, l'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636 concordait avec le composant Anti-PR du kit Dako ER/PR pharmDx™, affichant des valeurs de concordance globale, positive et négative de 94,5%, 95,8% et 93,1%, respectivement. Le Tableau 3 présente la comparaison des deux tests avec les recommandations d'évaluation ASCO/CAP.

Tableau 2 : Concordance entre Anti-PR, Clone PgR 636 (ASCO/CAP) et le composant Anti-PR du kit ER/PR pharmDx™ (Allred)

		Composant Anti-PR du kit ER/PR pharmDx™		Total
		Positive	Négative	
Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636	Positive	115	8	123
	Négative	5	108	113
	Total	120	116	236

Pourcentage de concordance positive = 95,8% (IC à 95% : 91,1 ; 96,8)
 Pourcentage de concordance négative = 93,1% (IC à 95% : 90,5 ; 96,7)
 Pourcentage de concordance globale = 94,5% (IC à 95% : 90,8 ; 96,8)

Tableau 3 : Concordance entre Anti-PR, Clone PgR 636 (ASCO/CAP) et le composant Anti-PR du kit ER/PR pharmDx™ (ASCO/CAP)

		Composant Anti-PR du kit ER/PR pharmDx™		Total
		Positive	Négative	
Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636	Positive	115	8	123
	Négative	1	112	113
	Total	116	120	236

Pourcentage de concordance positive = 99,1% (IC à 95% : 93,0 ; 98,0)

Pourcentage de concordance négative = 93,3% (IC à 95% : 92,8 ; 98,0)

Pourcentage de concordance globale = 96,2% (IC à 95% : 93,0 ; 98,0)

Reproductibilité inter-laboratoire : Les tests de reproductibilité de l'anticorps Anti-PR, Clone PgR 636 ont été conduits dans trois laboratoires d'analyse sur cinq jours non consécutifs ; au total, 21 échantillons de cancer du sein uniques ont été testés et évalués selon les recommandations ASCO/CAP (seuil $\geq 1\%$) pour un total de 315 évaluations. Les tableaux 4, 5 et 6 présentent les données de reproductibilité de l'analyse site à site. Les pourcentages moyens de concordance positive, négative et globale montrent des résultats hautement reproductibles pour les analyses avec l'anticorps PR (PgR 636) utilisées pour la détermination de l'état PR dans un contexte clinique.

Tableau 4 : Reproductibilité inter-laboratoire de l'anticorps Anti-PR, Clone PgR 636 - Site 1 vs Site 2

	Site 1			Total
		Positive	Négative	
	Site 2	Positive	55	0
		Négative	4	46
		Total	59	46
				105

Pourcentage moyen de concordance positive = 96,5%

Pourcentage moyen de concordance négative = 95,8%

Tableau 5 : Reproductibilité inter-laboratoire de l'anticorps Anti-PR, Clone PgR 636 - Site 2 vs Site 3

	Site 1			Total
		Positive	Négative	
	Site 3	Positive	59	1
		Négative	0	45
		Total	59	46
				105

Pourcentage moyen de concordance positive = 99,2%

Pourcentage moyen de concordance négative = 98,9%

Tableau 6 : Reproductibilité inter-laboratoire de l'anticorps Anti-PR, Clone PgR 636 - Site 2 vs Site 3

	Site 2			Total
		Positive	Négative	
	Site 3	Positive	55	5
		Négative	0	45
		Total	55	50
				105

Pourcentage moyen de concordance positive = 95,7%

Pourcentage moyen de concordance négative = 94,7%

DEUTSCH

Code-Nr. IS068

Verwendungszweck	Zur In-vitro-Diagnostik. FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor, Clone PgR 636, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), ist für die Verwendung in der Immunhistochemie zusammen mit dem Detektionssystem EnVision™ FLEX+, High pH mit Autostainer/Autostainer Plus-Geräten zum semi-quantitativen Nachweis des humanen Progesteronrezeptors beim formalinfixierten, paraffineingebetteten Mammakarzinomgewebe bestimmt. Dieser Antikörper markiert Progesteronrezeptor-positive Zellen und ist bei der Bewertung des Progesteronrezeptorstatus bei Mammakarzinomen einsetzbar. Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden.
Synonym für das Antigen	PR
Zusammenfassung und Erklärung	Die Funktion der Steroidhormonrezeptoren bei Brustkrebs ist bekannt (1,2). Das Fehlen von Östrogen- (ÖR) und Progesteronrezeptoren (PR) erlaubt die Prognose eines frühen Rezidivs und eines geringen Überlebens der Brustkrebspatienten (3-6). Dagegen erlaubt das Vorliegen von Östrogen und Progesteron in Tumoren die Prognose des potenziellen Nutzens einer Behandlung mit Antiöstrogenen (z. B. Tamoxifen) oder anderen endokrin wirksamen Behandlungen. ÖR- und PR-Bestimmungen können semi-quantitativ durch IHC oder quantitativ mit DCC oder EIA erfolgen. Die Korrelation zwischen semi-quantitativen und quantitativen PR-Auswertungen lag je nach Labor und verwendetem Antikörper zwischen 73 und 91% (7-9). Folgende Angaben bitte den <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Lagerung, 4) Gewebevorbereitung, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlerbehandlung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.
Geliefertes Reagenz	Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Na₃ enthält. <u>Klon</u>: PgR 636 (10) <u>Isotyp</u>: IgG1, kappa
Immunogen	Formalinfixierte rekombinante A-Form (vollständig) des humanen Progesteronrezeptors (10)
Spezifität	Anti-PR, PgR 636 hat im Western-Blotting an Ganzzell-Extrakten nachweislich mit den A- und B-Formen des Progesteronrezeptors reagiert. Es reagiert ebenfalls mit freien und hormonegebundenen Progesteronrezeptoren (10). Das Epitop wurde am Amino-Ende in derselben Molekülregion kartiert, in der auch PR-A und PR-B liegen.
Vorsichtsmaßnahmen	1. Für geschultes Fachpersonal 2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na₃N), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metallazid-Anreicherungen in den Leitungen zu vermeiden. 3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden. 4. Entsprechende persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden. 5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend den örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Bestimmungen zu entsorgen.
Lagerung	Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.
Gewebevorbereitung und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien	<u>Paraffinschnitte</u>: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden. <u>Vorbehandlung</u>: Eine Vorbehandlung der formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitte ist erforderlich. Optimale Ergebnisse können durch HIER-Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8012/K8004) erzielt werden. Entparaffinierung, Rehydrierung und Epitopdemaskierung können im Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) durchgeführt werden. Weitere Informationen hierzu: siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Für PT Link sind die folgenden Parameter zu verwenden: Temperatur auf 65 °C vorwärmen; Epitopdemaskierungstemperatur und -zeit: 97 °C für 20 (±1) Minuten; auf 65 °C abkühlen. Die Objektträgerhalter aus dem PT Link-Tank nehmen und die Objektträger sofort in einen Behälter/Tank (z. B. PT Link Rinse Station (Code-Nr. PT109)) mit verdünntem, auf Raumtemperatur gebrachtem EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) (Code K8007) tauchen. Die Objektträger 1-5 Minuten lang im Waschpuffer belassen.

Während der Vorbehandlung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objektträgern werden FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen. Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Eindeckmediums auf Objektträgern eingedeckt werden.

**Färbeverfahren
und erforderliche, aber
nicht mitgelieferte
Materialien**

Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH (Code-Nr. K8012). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software der Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräte mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert:

Matrix-Protokoll: FLEXRTU2 (200 µL Abgabevolumen) oder FLEXRTU3 (300 µL Abgabevolumen)

Autoprogram: PR (ohne Gegenfärbung) oder Autoprogram: PRH (mit Gegenfärbung)

Bei Färbedurchläufen mit ≤10 Objektträgern sollte der Zusatz-Schritt auf „Pufferspülgang“ eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern sollte der Zusatz-Schritt auf „Keine“ eingestellt werden. Dies gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Protokolle auf dem verwendeten Dako Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, bitte den technischen Kundendienst von Dako verständigen.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hämatoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges permanentes Eindeckmedium.

Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Das Positivkontrollgewebe sollte säulenförmige Epithelzellen, Basalschicht-Plattenepithelzellen und Stromazellen enthalten, und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungseigenschaften“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativkontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750).

**Auswertung der
Färbung**

Das zelluläre Färbemuster ist nukleär. Falls eine Markierung des Zytoplasmas beobachtet wird, sollte sie als nicht-spezifisch betrachtet werden. Ein positives Ergebnis ist als Kernfärbung in ≥1% der Tumorzellen bei jeder Färbintensität definiert. Dies steht mit dem ASCO/CAP-empfohlenen Grenzwert von ≥1% positiven Tumorzellen für eine positive Bewertung in Einklang (11).

**Produktspezifische
Beschränkung**

1. Falsch-negative Ergebnisse können die Folge eines mit der Zeit stattfindenden Antigenabbaus in den Geweben sein. Werden Proben bei Raumtemperatur aufbewahrt, so sollten diese innerhalb von 2 Monaten nach dem Eindecken der Schnitte auf Objektträgern gefärbt werden (12).
2. Lymphozyten und Stromazellen können mit dem Antikörper FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human PR clone PgR 636 eine positive Färbung aufweisen und sollten nicht als PR-färbende Tumorzellen interpretiert oder gezählt werden.
3. Zum Erzielen optimaler und reproduzierbarer Ergebnisse für PR-Protein ist dieses einer Demaskierung zu unterziehen, wenn die Gewebe routinemäßig (in neutralem gepuffertem Formalin) fixiert und paraffineingebettet werden.
4. Die Verwendung von Dako Anti-PR, Clone PgR 636 bei Geweben mit anderen Fixiermitteln als Formalin wurde nicht validiert.

Leistungseigenschaften

Präzision: Für die Tests wurden Serienschnitte aus jeweils 12 verschiedenen formalinfixierten, paraffineingebetteten Mammakarzinomblöcken, die einen dynamischen PR-Expressionsbereich repräsentieren, erfasst. Die Tests wurden wie folgt vorgenommen:

Präzision innerhalb eines Testlaufs: Gemäß Standardprotokoll für das EnVision™ FLEX+, High pH wurden jeweils drei Gewebeblockschnitte von jedem Gewebeblock mit Anti-PR, Clone PgR 636 gefärbt. Gleichzeitig wurde ein Schnitt von jedem Block mit einem Negativkontrollreagenz gefärbt.

Präzision zwischen den Testläufen: Das vorstehende Verfahren wurde an fünf nicht aufeinander folgenden Tagen wiederholt, wobei jeweils ein Gewebeblockschnitt gefärbt wurde. Gleichzeitig wurde ein Schnitt von jedem Gewebeblock mit einem Negativkontrollreagenz gefärbt.

Präzision zwischen den Geräten: Drei verschiedene Bediener führten das vorstehende Verfahren an drei verschiedenen Autostainer-Geräten durch, wobei insgesamt drei Schnitte aus jedem Gewebeblock gefärbt wurden. Gleichzeitig wurde ein Objektträger von jedem Gewebeblock mit einem Negativkontrollreagenz gefärbt.

Präzisionsexperimente mit Anti-PR, Clone PgR 636 lieferten bei den Tests innerhalb eines Laufs, zwischen den Läufen und zwischen den Geräten übereinstimmende Ergebnisse. Während der gesamten Studie herrschten gleichbleibende Testbedingungen, und die Reagenzien wurden zwischen den Testläufen bei 2-8 °C aufbewahrt.

Normalgewebe: Tabelle 1 enthält eine Übersicht über die Immunreaktivität von Anti-PR, Clone PgR 636 an der empfohlenen Auswahl von Normalgeweben. Alle Gewebe wurden formalinfixiert, paraffineingebettet und mit Anti-PR, Clone PgR 636 gemäß den Anweisungen in der Packungsbeilage gefärbt. Mit Anti-PR, Clone PgR 636 wurde eine Anfärbung des Zytoplasmas in einigen verschiedenen Gewebeelementen, darunter Epithel, Stroma, Interstitialzellen und Entzündungszellen, beobachtet. Obwohl eine Anfärbung des Zytoplasmas beobachtet wurde, gilt diese gemäß Verwendungszweck dieses Antikörpers nicht als Diagnose.

Tabelle 1: Übersicht über die Reaktivität von Anti-PR, Clone PgR 636 in Normalgewebe

Gewebetyp (Anz. getestet)	Positive Gewebe-Elemente	Gewebetyp (Anz. getestet)	Positive Gewebe-Elemente
Nebenniere (3)	1/3 Zellen in der Zona glomerulosa (50%), nukleär	Nerv, peripher (3)	0/3
	1/3 Zellen in der Zona glomerulosa (50%), nukleär	Eierstöcke (3)	3/3 Stromazellen (50-70%), nukleär
Knochenmark (3)	0/3	Pankreas (3)	2/3 Langerhans-Inseln (50-90%), nukleär
Brust (3)	2/3 Drüsenepithelzellen (50-90%), nukleär	Nebenschilddrüse (3)	3/3 Drüsenepithelzellen (1-10%), nukleär
Kleinhirn (3)	0/3	Hypophyse (3)	3/3 Hypophysenzellen (1-40%), nukleär
Großhirn (3)	1/3 Hirnhautzellen (100%), nukleär	Prostata (3)	3/3 Stromazellen (30-80%), nukleär
Zervix (3)	3/3 Epithelzellen (50-90%), nukleär	Speicheldrüse (3)	3/3 Drüsenepithelzellen (<1%-60%), nukleär
	3/3 Stroma, einschließlich Entzündungszellen (50%), nukleär	Haut (3)	0/3
Dickdarm (3)	1/3 Lymphoid-/Entzündungszellen (10%), nukleär	Dünndarm (3)	3/3 Stroma- und Entzündungszellen (30-50%), nukleär
	1/3 Lymphoid-/Entzündungszellen (10%), nukleär	Milz (3)	0/3
Speiseröhre (3)	1/3 Stromazellen (50%), nukleär	Magen (3)	1/3 Interstitialzellen (20%), nukleär
Niere (3)	3/3 Interstitialzellen (1-5%), nukleär	Hoden (3)	3/3 Interstitialzellen (5-80%), nukleär
Leber (3)	0/3	Thymus (3)	0/3
Lunge (3)	2/3 Interstitialzellen (1-10%), nukleär	Schilddrüse (3)	0/3
	2/3 Entzündungszellen (1-10%), nukleär	Mandeln (3)	0/3
Mesothelzellen (2)	0/2	Uterus (2)	2/2 Drüsenepithelzellen (100%), nukleär
Herzmuskel (3)	3/3 Myozyten (30%), perinukleär		2/2 Myometriale Stromazellen (100%), nukleär
Skelettmuskulatur (3)	0/3		

Methodenvergleich: Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636 wurde mit dem EnVision™ FLEX+ getestet und gemäß ASCO/CAP-Richtlinien (≥1% Grenzwert) bewertet (11). Anti-PR (Klon 1294) wurde mit dem ER/PR pharmDx™ Kit von Dako getestet und unter Verwendung der in der Packungsbeilage beschriebenen Richtlinie für den Allred-Score bewertet. Die Daten des Methodenvergleichs sind in Tabelle 2 aufgeführt. Unter Verwendung dieser jeweiligen Bewertungsrichtlinien stimmte Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636 mit der PR-Antikörperkomponente des ER/PR pharmDx™ Kit von Dako überein, wobei sich für die Gesamt-, Positiv- und Negativ-Übereinstimmung Werte von 94,5%, 95,8% bzw. 93,1% zeigten. Tabelle 3 zeigt den Vergleich der beiden Assays bei Bewertung mittels der ASCO/CAP-Richtlinien.

Tabelle 2: Übereinstimmung zwischen Anti-PR, Clone PgR 636 (ASCO/CAP) und der Anti-PR-Komponente des ER/PR pharmDx™ Kit (Allred)

		Anti-PR-Komponente des ER/PR pharmDx™ Kit		
		Positiv	Negativ	Gesamt
Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636	Positiv	115	8	123
	Negativ	5	108	113
	Gesamt	120	116	236

Prozentuale Positiv-Übereinstimmung = 95,8% (95% KI: 91,1-96,8)
 Prozentuale Negativ-Übereinstimmung = 93,1% (95% KI: 90,5-96,7)
 Prozentuale Gesamt-Übereinstimmung = 94,5% (95% KI: 90,8-96,8)

Tabelle 3: Übereinstimmung zwischen Anti-PR, Clone PgR 636 (ASCO/CAP) und Anti-PR-Komponente des

ER/PR pharmDx™ Kit (ASCO/CAP)

		Anti-PR-Komponente des ER/PR pharmDx™ Kit		Gesamt
		Positiv	Negativ	
Monoclonal Mouse Anti-Human PR, Clone PgR 636	Positiv	115	8	123
	Negativ	1	112	113
	Gesamt	116	120	236

Prozentuale Positiv-Übereinstimmung = 99,1% (95% KI: 93,0-98,0)

Prozentuale Negativ-Übereinstimmung = 93,3% (95% KI: 92,8-98,0)

Prozentuale Gesamt-Übereinstimmung = 96,2% (95% KI: 93,0-98,0)

Reproduzierbarkeit zwischen Labors: Die Reproduzierbarkeit von Anti-PR, Clone PgR 636 wurde in drei Testlabors fünf nicht aufeinander folgende Tage lang an 21 eindeutigen Brustkrebsgewebeproben getestet und gemäß ASCO/CAP-Richtlinien ($\geq 1\%$ Grenzwert) für insgesamt 315 Auswertungen bewertet. Die Tabellen 4, 5 und 6 führen die Reproduzierbarkeit des Assays zwischen den Prüfstellen einzeln auf. Die Berechnungen der prozentualen durchschnittlichen Positiv- und Negativ-Übereinstimmung sowie der Gesamtübereinstimmung stützen die in hohem Maße reproduzierbaren Ergebnisse des PR-Assays (PgR 636), wenn er im klinischen Rahmen zur Bestimmung des PR-Status eingesetzt wird.

Tabelle 4: Prüfstelle 1 gegenüber Prüfstelle 2 Reproduzierbarkeit von Anti-PR, Clone PgR 636 zwischen Labors

	Prüfstelle 1			Gesamt
		Positiv	Negativ	
	Prüfstelle 2	Positiv	55	0
		Negativ	4	46
		Gesamt	59	46

Durchschnittliche prozentuale Positiv-Übereinstimmung = 96,5%

Durchschnittliche prozentuale Negativ-Übereinstimmung = 95,8%

Tabelle 5: Prüfstelle 1 gegenüber Prüfstelle 3 Reproduzierbarkeit von Anti-PR, Clone PgR 636 zwischen Labors

	Prüfstelle 1			Gesamt
		Positiv	Negativ	
	Prüfstelle 3	Positiv	59	1
		Negativ	0	45
		Gesamt	59	46

Durchschnittliche prozentuale Positiv-Übereinstimmung = 99,2%

Durchschnittliche prozentuale Negativ-Übereinstimmung = 98,9%

Tabelle 6: Prüfstelle 2 gegenüber Prüfstelle 3 Reproduzierbarkeit von Anti-PR, Clone PgR 636 zwischen Labors

	Prüfstelle 2			Gesamt
		Positiv	Negativ	
	Prüfstelle 3	Positiv	55	5
		Negativ	0	45
		Gesamt	55	50

Durchschnittliche prozentuale Positiv-Übereinstimmung = 95,7%

Durchschnittliche prozentuale Negativ-Übereinstimmung = 94,7%

References

Bibliographie

Literaturnachweise

1. Henderson C. Breast cancer. In: Harrison's principles of internal medicine, 12th edition, Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Martin JB, Fauci AS, Root RK (eds). McGraw-Hill, Inc. New York, 1991
2. Fuqua SAW. Estrogen and progesterone receptors and breast cancer. Diseases of the Breast, Harris et al, eds. Lippincott-Raven, 1996. p. 261.
3. McGuire WL, Clark GM. The prognostic role of progesterone receptors in human breast cancer. Sem Oncol 1983;10:2.
4. Clark GM, McGuire WL, Hubay CA, Pearson OH, Marshall JS. Progesterone receptors as prognostic factor in stage II breast cancer. N Engl J Med 1983;39:1343.
5. Ravdin PM, Green S, Dorr TM, McGuire WL, Fabian C, Puch RP, et al. Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: Results of a prospective southwest oncology group study. JCO 1992;10:1284.
6. Chevallier B, Heintzmann F, Mosseri V, Dauce JP, Bastit P, Graic Y, Brunelle P, Basuyay JP, Comoz M, Asselain B. Prognostic value of estrogen and progesterone receptors in operable breast cancer: Results of a univariate and multivariate analysis. Cancer 1988; 62:2517
7. Page DL, Jensen RA, Simpson JF. Routinely available indicators of prognosis in breast cancer. Breast Can Res Treat 1998;51:195.
8. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. Mod Pathol 1998;11:155.
9. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists consensus statement. Arch Pathol Lab Med 2000;124:966.
10. Press M, Spaulding B, Groshen S, Kaminsky D, Hagerty M, Sherman L, et al. Comparison of different antibodies for detection of progesterone receptor in breast cancer. Steroids 2002; 67:799.
11. Hammond MEH, Hayes DF, Dowsett M, Allred C, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. Arch Pathol Lab Med 2010;134:907–22.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Quality assurance for immunocytochemistry; Approved guideline. CLSI document MM4-A (1-56238-396-5)- CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400. Wayne, PA 19087-1898 USA 1999.

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 Dako North America, Inc. 6392 Via Real Carpinteria, California 93013 USA Tel 805 566 6655 Fax 805 566 6688 Technical Support 800 424 0021 Customer Service 800 235 5763	 Dako Denmark A/S Produktionsvej 42 DK-2600 Glostrup Denmark Tel +45 4485 9500 Fax +45 4485 9595 www.dako.com
 Manufacturer Fabricant Hersteller	 Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	 Contains sufficient for <N> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für „n“ Ansätze		
 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU		

PT0020/ Rev C

Edition / Édition / Ausgabe 08/14